



Universidad de **Nariño**

MANUAL DE PROCEDIMIENTOS

PARA EL ANÁLISIS DE CALIDAD
EN TUBÉRCULOS DE PAPA



Mejoramiento Tecnológico y
Productivo del Sistema de **Papa**
en el **Departamento de Nariño**



Universidad de **Nariño**

Mejoramiento Tecnológico y Productivo del Sistema de **Papa** en el **Departamento de Nariño**





Manual de procedimientos para el análisis de Calidad en Tubérculos de Papa

Diego Fernando Mejía España
Ingeniero Agroindustrial M.Sc.

Luis Fernando Valencia Flórez
Químico Esp.

Laura Inés Latorre Vásquez
Ingeniera Agroindustrial M.Sc.

Diego Martin Trejo Escobar
Ingeniero Agroindustrial M.Sc.

AGRADECIMIENTOS

Al Sistema General de Regalías, a la Gobernación de Nariño y a la Universidad de Nariño por la financiación del proyecto Mejoramiento Tecnológico y Productivo del Sistema Papa en el Departamento de Nariño.



Universidad de **Nariño**

Ciudadela Universitaria Torobajo - Calle 18 Carrera 50

Teléfono: 313 770 2583

Correo electrónico: proyectopaparegalias@udenar.edu.co

ISBN IMPRESO: 978-958-5123-68-7

ISBN DIGITAL: 978-958-5123-75-5

Tiraje: 1000 Ejemplares

Impreso por: Tipografía Cabrera - Pasto

Publicación: 2021

INTRODUCCIÓN			
	4	5. CONTENIDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO POR REFLECTOMETRÍA	10. METODOLOGIA POR ABTS
1. POSTCOSECHA DEL TUBÉRCULO	5	13	27
2. PESO Y GRAVEDAD ESPECÍFICA	8	6. DETERMINACIÓN DE NITRATOS Y NITRITOS POR REFLECTOMETRÍA	11. MEDICIÓN DEL CONTENIDO DE FENOLES TOTALES, PORQUE NO SE SABE QUÉ FENOLES SON
3. MATERIA SECA	10	16	31
4. CONTENIDO DE GLUCOSA POR REFLECTOMETRÍA	11	7. COLOR	12. MEDICIÓN DEL CONTENIDO DE GLICOALCALOIDES
		19	35
		8. FIRMEZA / TEXTURA	13. MEDICIÓN DEL CONTENIDO DE GRASA
		21	39
		9. PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	
		23	

Contenido

Introducción

El cultivo de la papa es una de las actividades productivas características en Nariño que sitúan al departamento en un lugar reconocido a nivel nacional en producción, área sembrada y calidad del tubérculo. Esta actividad representa una fuente de ingresos importantes a muchas personas en la región y mantiene las dinámicas económicas para diversos actores de la cadena de valor.

El proyecto Mejoramiento Tecnológico y Productivo del Sistema Papa en el Departamento de Nariño tiene como objetivo mejorar y optimizar el desempeño de la cadena de la papa en el departamento y con la realización de este manual de procedimientos se quiere aportar con conocimientos y experiencias prácticas, tomando en cuenta las metodologías aplicables para el sector, que permitan incrementar la productividad, competitividad y la calidad de los productos para su utilización en la cadena productiva.

Este manual se ha diseñado para presentar a estudiantes, profesionales, investigadores y comunidad en general relacionada con la producción de papa, algunos conceptos, criterios y metodologías aplicables para el estudio y determinación de parámetros de calidad de los tubérculos de papa que permitan su posterior aprovechamiento agroindustrial.

En esta publicación se presentan algunas metodologías, realizadas en el laboratorio de análisis de calidad de los alimentos en la Universidad de Nariño, que permiten caracterizar la materia prima con el propósito de brindar un producto de calidad a la agroindustria emergente de la región. Se espera que este documento sirva de guía para los productores, técnicos e investigadores, con el fin de generar una cultura de calidad en la producción y transformación de la papa que sirvan de base para establecer una industria de papa competitiva con proyección de mercados a nuevos niveles.



POSTCOSECHA DEL TUBÉRCULO

El principal propósito de la postcosecha es mantener en buen estado los tubérculos mediante una adecuada conservación de los mismos. Dentro de la postcosecha se realizan actividades como: selección, clasificación, almacenamiento y transporte. Durante este proceso se generan pérdidas de producto aproximadamente en un 25 % que no llega al consumidor final. Estas pérdidas pueden deberse a factores físicos como heridas mecánicas, a factores fisiológicos como la exposición del tubérculo a temperaturas extremas durante el almacenamiento o la exposición al sol, y finalmente a problemas patológicos ocasionados por agentes bacterianos, insectos u hongos.

Crterios a determinar en la postcosecha de los tubérculos de papa

a) Selección

La selección se puede realizar a mano, de manera mecánica o mixta; generalmente se realiza directamente en campo. Durante este proceso se deben eliminar papas que presenten: manchas verdes, señales de brotación, malformación y daños por cortes o plagas.

Los **daños** son lesiones o alteraciones de magnitud variables que presentan los tubérculos y que afectan notoriamente la presentación y al eliminarse causan desperdicios mayores al 5 % en peso o afectan los tejidos en una profundidad mayor a 0,5 cm.

Daños que se pueden ocasionar en los tubérculos

Mecánicos	Causados por agentes físicos y plagas
Fisiológicos	Causados por alteraciones no patogénicas de origen interno o externo
Por patógenos	Ocasionados por hongos y bacterias
Por insectos	Ocasionados por insectos

b) Clasificación

Simultánea a la selección los tubérculos de papa se deben clasificar generalmente por tamaño según las exigencias del mercado.

Límites de tamaño de la papa de consumo

Muy grande (Cero)	Diámetro mayor a 90 mm
Grande (Gruesa)	Diámetro entre 65 mm a 90 mm
Mediana (Pareja)	Diámetro entre 45 mm a 64 mm
Pequeña (Richi)	Diámetro entre 30 mm a 44 mm

Entendiendo como el diámetro la distancia máxima sobre el eje más largo del tubérculo sin tomar en cuenta la posición de la inserción del estolón, el cual se puede medir con ayuda de un calibrador pie de rey, una regla o una plantilla con agujeros del diámetro adecuado.

c) Forma

La forma del tubérculo es un descriptor morfológico ampliamente utilizado para diferenciar variedades que permite en cierta medida el diseño de una máquina, el análisis de un producto y un adecuado manejo durante periodos de cosecha, postcosecha, almacenamiento y procesamiento. Las dimensiones como la altura (distancia entre el estolón hasta el ápice (L)) y el ancho (diámetro del tubérculo (D)) son necesarias para describir satisfactoriamente la forma de los tubérculos mediante la relación entre ellos, describiendo así un índice de forma (IF), cuyo valor define 5 formas comunes en los tubérculos de papa.

Las dimensiones se determinan con ayuda de un calibrador pie de rey o una regla.

Escala de índice de forma en tubérculos de papa

Comprimido	Índice de forma menor a 0,90
Redondo	Índice de forma entre 0,90 a 1,10
Oblongo	Índice de forma entre 1,10 a 1,50
Oblongo alargado	Índice de forma entre 1,50 a 2,50
Alargado	Índice de forma mayor a 2,50

d) Dormancia

La dormancia del tubérculo está definida como la ausencia de crecimiento visible de los brotes, la cual empieza en el momento de la separación del tubérculo de la planta hasta el inicio de la brotación. Generalmente se considera que la dormancia se pierde cuando un tubérculo contiene uno o más brotes con una longitud mayor de dos milímetros. El periodo de dormancia depende del genotipo, las condiciones ambientales pre y postcosecha, la madurez del tubérculo al momento de la cosecha y los daños mecánicos presentados durante el crecimiento y el almacenamiento. En postcosecha los principales factores asociados a la reducción del periodo de dormancia son: temperatura de almacenamiento (mayor a 10 °C), cantidad y tipo de luz, sanidad y manejo de los tubérculos. La regulación de estos procesos es importante para mantener tubérculos de buena calidad y brotes vigorosos en los tubérculos-semilla.

El periodo de dormancia en tubérculos almacenados a temperatura ambiente se determina por el número de días desde la cosecha hasta que tengan brotes de 2 mm de largo.

Periodo de dormancia

Ausente	Tubérculos con brotes a la cosecha
Muy corto	Brotación en menos de 15 días
Corto	Brotación entre los 15 a 45 días
Intermedio	Brotación cerca de los 90 días
Largo	Brotación entre los 100 a 120 días
Muy largo	Brotación en más de 120 días

Recomendaciones generales en la postcosecha de tubérculos de papa

Las papas no se deben lavar ni tener contacto con agua de lluvia o condensación ya que esto permite el crecimiento de bacterias, generando la pudrición inmediata del mismo

Las instalaciones de almacenamiento y los vehículos de transporte empleados deben estar contruidos con materiales no tóxicos, que permitan una fácil limpieza de manera que se reduzca al mínimo los daños, además de evitar el acceso a plagas.

Los productos que se van a transportar deben ser seleccionados, eliminando aquellas que no sean aptas para consumo humano.

Almacenar la papa en contenedores, estibas, cajas, bandejas de almacenamiento o sacos y organizados por lotes. Las estibas o paletas pueden ser de madera, cartón corrugado prensado o plástico.

Referencias

- Brewer, M., L. Lang, K. Fujimura, N. Ducmovic, S. Gray, E. van der Knaap. 2006. Development of a controlled vocabulary and software application to analyze fruit shape variation in tomato and other plant species. *Plant Physiology*. 141. 15-25.
- Cámara de Comercio de Bogotá. Manual Papa. Programa de apoyo agrícola y agroindustrial. 2015. 54p.
- Huaman, Z. Descriptores morfológicos de la papa (*Solanum tuberosum* L.). 2008. Centro de Conservación de la Biodiversidad Agrícola de Tenerife CCBAT, Cabildo de Tenerife, España, 40p.
- Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC). Norma Técnica Colombiana NTC 341. Industria Alimentaria. Papa para consumo. Clasificación. 1969.
- Latorre-Vásquez, Laura., Córdoba-Solarte, L., Chaves-Morillo, D., L., Valencia-Flórez, L., Trejo-Escobar, D., y Mejía-España, D. 2017. Elaboración de una escala para determinar forma en tubérculos de papa nativa. VII Congreso Ecuatoriano de la Papa, Libro de memorias, Tulcán, Ecuador. 171-172.
- Rodríguez, L., Moreno, L. 2010. Factores y mecanismos relacionados con la dormancia en tubérculos de papa. Una revisión. *Agronomía Colombiana*, 28(2): 189-197.

PESO Y GRAVEDAD ESPECÍFICA

La gravedad específica (GE) se define como la relación entre el peso de una sustancia y el peso de la misma sumergida en agua a 15,6 °C. La GE de los tubérculos de papa es relativamente fácil de determinar y se usa para estimar la calidad del tubérculo. Se considera aceptable un contenido de gravedad específica de 1,080 o mayor. Estos valores corresponden a un contenido de sólidos de más o menos 18 %. El porcentaje de materia seca y de gravedad específica están altamente correlacionados y son dos maneras alternativas de estimar el contenido sólido de los tubérculos.

Materiales, equipos y reactivos

- Balanza de precisión
- Recipiente adecuado

Procedimiento

1. Colocar recipiente sobre la balanza y recalibrar a cero.
2. Colocar 5 a 10 tubérculos. Determinar el peso y registrar como peso en aire
3. Retirar las papas y repetir el paso 1 llenando el recipiente con agua, tarar la balanza.
4. Sumergir los mismos tubérculos del paso 2 cuidando de que los mismos no toquen las paredes del recipiente y registrar los datos como peso en agua.

Cálculos y registro de resultados

El cálculo de gravedad específica se realiza con la siguiente formula:

$$GE = \frac{\text{peso en aire}}{\text{peso en agua}}$$

La determinación de la gravedad específica de los tubérculos ha sido usada como una medida rápida, fácil y bastante aproximada del contenido de materia seca y almidón, los cuales se pueden estimar mediante las siguientes relaciones:

$$\text{Materia Seca (\%)} = 24,182 + 211,04 \times (GE - 1,0988)$$

$$\text{Almidón (\%)} = 17,546 + 199,07 \times (GE - 1,0988)$$

Recomendaciones

Preferiblemente utilizar papas lavadas y limpias, si el agua se contamina con partículas de tierra las lecturas serán erróneas; se recomienda cambiar el agua del recipiente a intervalos regulares. La gravedad específica también puede determinarse con el método del hidrómetro.

Referencias

Centro Internacional de la Papa (CIP). 2010. Procedimientos para pruebas de evaluación estándar de clones avanzados de papa. Guía para Cooperadores Internacionales. 153p.

Centro Internacional de la Papa (CIP). 2011. Processing Protocol – Standard Evaluation Trials. <https://research.cip.cgiar.org/confluence/display/SET/Processing+Protocol>.

Contreras, M. 2017. Determinación de la relación entre el contenido de almidón y materia seca con la gravedad específica de cinco variedades de papa (*Solanum tuberosum*). Tesis pregrado, Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias, Universidad Nacional del Centro del Perú. 80p.

Valdunciel, J. sf. Métodos de valoración para las patatas. 13p.

MATERIA SECA

La materia seca (MS) es la parte que resta de un material tras extraer toda el agua posible a través de un calentamiento hecho en condiciones de laboratorio. El contenido de MS influye directamente en el rendimiento de las papas procesadas, la tasa de absorción de aceite en los productos fritos y también la textura de las papas cocidas. En general, se considera aceptable un contenido de materia seca de más del 20 %, el cual corresponde a un contenido sólido de más o menos 18 %.

Materiales, equipos y reactivos

- Balanza de precisión
- Horno de secado

Procedimiento

1. Picar cinco tubérculos en cubos pequeños de 1 a 2 cm, mezclar bien y tomar una muestra representativa. Determinar el peso exacto y registrarlo como peso fresco.
2. Colocar la muestra en una bolsa de papel o recipiente abierto y resistente al calor. Llevar al horno a 80 °C por 72 horas o hasta peso constante. Registrar el peso final como peso seco.

Cálculos y registro de resultados

El cálculo de materia seca se realiza con la siguiente formula:

$$MS (\%) = \frac{\text{peso seco}}{\text{peso fresco}} \times 100$$

Recomendaciones

Se debe evaluar el contenido de materia seca dentro de las 24 horas después de la cosecha con el fin de evitar cambios debido a mermas. Los tubérculos deben estar libres de enfermedades y daños.

Referencias

Centro Internacional de la Papa (CIP). 2010. Procedimientos para pruebas de evaluación estándar de clones avanzados de papa. Guía para Cooperadores Internacionales. 153p.

Contreras, M. 2017. Determinación de la relación entre el contenido de almidón y materia seca con la gravedad específica de cinco variedades de papa (*Solanum tuberosum*). Tesis pregrado, Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias, Universidad Nacional del Centro del Perú. 80p.

Martin Lishman. sf. Medición de materia seca en patata. <http://es.martinlishman.com/papa-seca-materia-medici%C3%B3n/>

CONTENIDO DE GLUCOSA POR REFLECTOMETRÍA

La glucosa es un compuesto orgánico del grupo de los carbohidratos, es un monosacárido que no se puede convertir por hidrólisis en compuestos más simples; es un azúcar reductor porque reduce el reactivo de Fehling. La (+)-glucosa es la unidad constituyente del almidón, de la celulosa y del glicógeno y por su función especial en procesos biológicos es el monosacárido más abundante e importante. El consumo y metabolismo de carbohidratos proporciona la mayor fuente de energía que necesitan los organismos.

Materiales, equipos y reactivos

Balanza analítica

Reflectómetro RQflex plus 10

Procesador de alimentos para homogenizar o licuadora

Test de glucosa del sistema Reflectoquant compuesto por tiras de ensayo y tira de código de barras

Tiras indicadoras universales de pH

Balones aforados de 50 mL, 100 mL, 250 mL.

Instrumental de laboratorio: pipetas, agitadores, soportes, gradillas, tubos de ensayo, beakers, frasco lavador, toallas de papel.

Solución de hidróxido de sodio (NaOH) 1 M: se puede utilizar la solución comercial de concentración 1 mol/L, o preparar pesando 2,0 g del reactivo y llevando a 50 mL con agua destilada en balón aforado.

Solución de ácido clorhídrico (HCl) 1 M: se puede utilizar la solución comercial de concentración 1 mol/L, o preparar tomando 4,4 mL de reactivo HCl al 37 % (concentrado) y se agregan a un balón aforado con agua destilada hasta la mitad para completar a 50 mL.

Solución estándar de glucosa: pesar 100 mg de D(+)-glucosa (seca a 105 °C por 2 horas) completar a 100 mL con agua destilada, dejar en reposo por 2 horas para preparar diluciones. El contenido de glucosa es de 1000 mg/L.

Estándar de glucosa de 50 mg/L: Diluir a volumen con agua destilada un volumen de 5 mL de la solución estándar de glucosa de 1000 mg/L en un balón aforado de 100 mL.

Procedimiento

1. Exprimir el jugo de la papa y homogenizar la muestra, puede ser con un procesador de alimentos o una licuadora.
2. Diluir el jugo en relación 1:49; para esto, se transfiere 1 mL del extracto de papa a un balón aforado de 50 mL y se lleva a volumen por la adición de agua destilada, antes de completar el volumen verificar que el valor de pH se encuentra en el intervalo entre **2 – 10** con la ayuda de tiras indicadoras universales, si es necesario, ajustar el pH con adición de solución de hidróxido de sodio 1 M o con ácido clorhídrico 1 M.
3. Encender el reflectómetro presionando la tecla ON/OFF, presionar la tecla TEST hasta que en la pantalla se muestre el número correspondiente del test de glucosa. Las tres primeras cifras del número de lote del test de glucosa utilizado, deben coincidir con las cifras que se muestran en la pantalla, de lo contrario se debe recalibrar el instrumento. Tener a disposición las tiras de ensayo en su recipiente de empaque.

4. Presionar la tecla START del reflectómetro, aparecerá en la pantalla el tiempo de reacción memorizado para el método que es de 60 segundos. Pulsar de nuevo la tecla START e introducir simultáneamente la tira de ensayo con ambas zonas de reacción inmersas en la muestra preparada, durante un tiempo de 15 segundos ($T = 15-30\text{ }^{\circ}\text{C}$).
5. Retirar la tira de la muestra y dejar que se escurra cuidadosamente el exceso de líquido por el borde longitudinal de la tira sobre un pañuelo de papel absorbente.
6. Aproximadamente 10 segundos antes de transcurrir el tiempo de reacción, introducir la tira con las zonas de reacción en dirección a la pantalla hasta el tope en el adaptador de tiras.
7. Después de transcurrido el tiempo de reacción, leer en la pantalla el valor de medición en unidades de mg/L de glucosa, escribir el resultado en el cuaderno de laboratorio o el formato utilizado para registro. El valor de resultado se memoriza de manera automática.
8. Si el valor de medición es superior al intervalo de medida del test, en la pantalla se mostrará el valor "HI". En este caso debe repetirse la medición con nuevas muestras diluidas, hasta que se obtenga un valor inferior a 100 mg/L. Si el valor es inferior al intervalo de medida aparece el valor "LO"; en este caso se recomienda tomar más muestra para la dilución. El intervalo de medida del test es de 1-100 mg/L de glucosa.

Cálculos y registro de resultados

El resultado del análisis se considera que corresponde a la dilución realizada:

$$\begin{aligned}\text{Contenido de Glucosa [mg/l]} &= \text{Valor de medición} \times \text{factor de dilución} \\ \text{Contenido de glucosa [mg/l]} &= \text{valor de medición} \times \frac{50}{\text{peso de la muestra}}\end{aligned}$$

Recomendaciones

Para la comprobación de las tiras de ensayo, el instrumento de medición y del procedimiento, se recomienda realizar una medición de la solución estándar de glucosa de 50 mg/L antes de cada serie de medición y registrar el resultado en los formatos de laboratorio.

Para las repeticiones promediar los valores obtenidos y expresar el resultado con dos cifras significativas. La diferencia de los dos resultados no debe ser superior al 2 % del promedio.

Por cada grupo de 10 muestras se recomienda procesar un duplicado de las muestras. Si se introduce la tira en el adaptador después de pasado el tiempo de reacción, es posible que se obtenga un valor falso de medición al pulsar de nuevo la tecla START.

Referencias

- MERCK. Application: Glucose in Potatoes. Reflectometric determination after reaction with glucose oxidase and peroxidase. Darmstadt, Germany. 2012.
- MERCK. Reflectoquant. Test Glucosa. Darmstadt, Germany. 2012.
- MERCK. Reflectoquant. RQflex plus 10, Modo de empleo. Darmstadt, Germany. 2013.
- MORRISON Y BOYD. Química Orgánica. Quinta edición. Pearson Addison Wesley. México, 1998. ISBN: 968 444 340 4.

CONTENIDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO POR REFLECTOMETRÍA

La vitamina C es una de las formas del ácido L-ascórbico, se clasifica como una vitamina hidrosoluble, y en los alimentos se destruye por cocción a altas temperaturas; además de su uso como complemento vitamínico, se emplea como conservador de alimentos, mejorador de la harina en panaderías y como aditivo en alimentos para animales. Su importancia biológica se manifiesta debido a que algunos organismos no las pueden sintetizar y deben adquirirlas a través de los alimentos.

Materiales, equipos y reactivos

Balanza analítica

Reflectómetro RQflex plus 10

Procesador de alimentos para homogenizar o licuadora

Test de Ácido ascórbico del sistema Reflectoquant compuesto por tiras de ensayo y tira de código de barras

Balones aforados de 10 mL, 50 mL, 100 mL.

Instrumental de laboratorio: pipetas, agitadores, soportes, gradillas, tubos de ensayo, viales, beakers, frasco lavador, toallas de papel.

Solución de ácido tricloroacético (CCl_3COOH) 0,5 %: preparar pesando 0,50 g del reactivo y llevar a 100 mL con agua destilada en balón aforado.

Solución de 1,4-Dithiothreitol (15,4 mg/mL): preparar tomando 154 mg del reactivo y se agregan a un balón aforado con agua destilada hasta completar a 10 mL.

Solución de N-Ethylmaleimida (50 mg/mL): pesar 500 mg del reactivo llevar a balón aforado de 10 mL, completar a volumen con agua destilada.

Solución Buffer pH 7

Solución de ácido oxálico al 1 %: disolver 14 g de ácido oxálico dihidrato en 1 L de agua destilada.

Solución estándar de ácido ascórbico: pesar 100 mg de L(+)-ácido ascórbico en solución de ácido oxálico al 1 %, llevar a un volumen de 100 mL en balón aforado y mezclar. El contenido de ácido ascórbico es de 1000 mg/L.

Estándar de ácido ascórbico: Diluir a volumen con solución de ácido oxálico una alícuota de 10 mL de la solución estándar de ácido ascórbico de 1000 mg/L en un balón aforado de 50 mL, se obtiene una concentración de 200 mg/L de ácido ascórbico.

Procedimiento

1. Extraer las muestras de material sólido usando ácido tricloroacético previo a la determinación del ácido ascórbico total: pesar unos 50 g de muestra vegetal, añadir 50 mL de la solución de ácido tricloroacético y homogenizar la muestra, puede ser con un procesador de alimentos o una licuadora.
2. Filtrar a través de papel de filtro.

3. Tomar una alícuota de 1 mL del filtrado en un vial de 2 mL, añadir 0,8 mL de la solución buffer pH 7 y 0,1 mL de la solución acuosa de 1,4-Dithiothreitol, mezclar fuertemente en agitador vortex y dejar reaccionar por un tiempo de 15 minutos.
4. Agregar 0,1 mL de la solución acuosa de N-ethylmaleimide y mezclar de nuevo, proceder a analizar esta muestra tratada después de 1 minuto.
5. Encender el reflectómetro presionando la tecla ON/OFF, presionar la tecla TEST hasta que en la pantalla se muestre el número correspondiente del test de ácido ascórbico, se debe comparar las tres primeras cifras del número de lote del test utilizado, con las cifras que se muestran en la pantalla, las cifras deben coincidir, de lo contrario se debe recalibrar el instrumento. Tener a disposición las tiras de ensayo en su recipiente de empaque.
6. Presionar la tecla START del reflectómetro, aparecerá en la pantalla el tiempo de reacción memorizado para el método que es de 15 segundos. Pulsar de nuevo la tecla START e introducir de forma absolutamente simultanea la tira de ensayo con ambas zonas de reacción inmersas en la muestra preparada, durante un tiempo de 2 segundos (15-30 °C).
7. Retirar la tira de la muestra y dejar que se escurra cuidadosamente el exceso de líquido por el borde longitudinal de la tira sobre un pañuelo de papel absorbente.
8. Aproximadamente 5 segundos antes de terminar el tiempo de reacción, introducir la tira con las zonas de reacción en dirección a la pantalla hasta el tope en el adaptador de tiras.
9. Después de transcurrido el tiempo de reacción, leer en la pantalla el valor de medición en unidades de mg/L de ácido ascórbico, escribir el resultado en el cuaderno de laboratorio o el formato utilizado para registro. El valor de resultado se memoriza de manera automática.
10. Si el valor de medición es superior al intervalo de medida del test en la pantalla aparece el valor HI, en este caso debe repetirse la medición con nuevas muestras diluidas, hasta que se obtenga un valor inferior a 450 mg/L. Si el valor es inferior al intervalo de medida aparece el valor LO, se recomienda tomar más muestra para la dilución. El intervalo de medida del test es de 25-450 mg/L de ácido ascórbico.

Cálculos y registro de resultados

El resultado del análisis se considera que corresponde a la dilución realizada:

$$\begin{aligned} \text{Contenido de ácido ascórbico total [mg/l]} &= \text{Valor de medición} \times \text{factor de dilución} \\ \text{Contenido de ácido ascórbico total [mg/l]} &= \text{valor de medición} \times 4 \end{aligned}$$



Recomendaciones

Para la comprobación de las tiras de ensayo, el instrumento de medición y del procedimiento, se recomienda realizar una medición de la solución estándar de ácido ascórbico de 200 mg/L antes de cada serie de medición, registrar el resultado en los formatos de laboratorio. Por cada grupo de 10 muestras se recomienda procesar un duplicado de las muestras.

Para las repeticiones promediar los valores obtenidos y expresar el resultado con dos cifras significativas. La diferencia de los dos resultados no debe ser superior al 2 % del promedio. Si se introduce la tira en el adaptador después de pasado el tiempo de reacción, es posible que se obtenga un valor falso de medición al pulsar de nuevo la tecla START.

Referencias

MERCK. Application: Ascorbic Acid (Total) in Plant material. Hydrogentaion of dehydroascorbic acid, reaction of the produced ascorbic acid with molybdo-phosphoric acid to phosphomolybdenum blue followed by a reflectometric determination. Darmstadt, Germany. 2012.

MERCK. Reflectoquant. Test Ácido ascórbico. Darmstadt, Germany. 2013.

MERCK. Reflectoquant. RQflex plus 10, Modo de empleo. Darmstadt, Germany. 2013.

NELSON Y COX. Lehninger: Principios de Bioquímica. Sexta edición. Editorial Omega. España, 2014. ISBN: 978 842 821 6036.

McMURRY, J. Química Orgánica. Quinta Edición. International Thomson Editores, S.A. de C.V., México, 2001.

DETERMINACIÓN DE NITRATOS Y NITRITOS POR REFLECTOMETRÍA

La mayoría de las plantas requieren nitratos para sintetizar las proteínas, los vegetales absorben varias cantidades de nitratos por lo que en el sector agrícola es importante asegurar un suministro pleno y balanceado de nitratos en el suelo. Los nitratos no son perjudiciales para la salud humana, sin embargo, sus productos metabólicos si pueden ser dañinos. Es posible para algunas bacterias reducir el nitrato en nitrito en la boca o el estómago; el nitrito bloquea la hemoglobina interfiriendo el transporte de oxígeno a las células. Los nitritos pueden reaccionar con aminas secundarias, que se encuentran en muchos alimentos, para formar nitrosaminas, sustancias que son carcinogénicas.

Materiales, equipos y reactivos

Balanza analítica

Reflectómetro RQflex plus 10

Procesador de alimentos para homogenizar o licuadora

Test de Nitratos del sistema Reflectoquant compuesto por tiras de ensayo y tira de código de barras

Test de Nitritos del sistema Reflectoquant

Tiras indicadoras universales de pH

Balones aforados de 10 mL, 50 mL, 100 mL.

Instrumental de laboratorio: pipetas, agitadores, soportes, gradillas, tubos de ensayo, viales, beakers, frasco lavador, toallas de papel.

Ácido L(+)-tartárico para análisis

Acetato de sodio anhidro para análisis.

Solución de Ácido amidosulfúrico al 10 %: pesar 1 g del reactivo llevar a balón aforado de 10 mL, completar a volumen con agua destilada.

Solución Patrón de nitratos 1000 mg/L para análisis.

Estándar de nitratos: Diluir a volumen con agua destilada una alícuota de 5 mL de la solución estándar de nitratos de 1000 mg/L en un balón aforado de 100 mL, se obtiene una concentración de 50 mg/L de nitratos.

Procedimiento

1. Homogenizar la papa en una licuadora (Ultraturrax).
2. Pesar con precisión 10 g en un beaker y adicionar 40 mL de agua destilada.
3. Cubrir con un vidrio de reloj y llevar a ebullición por 15 minutos.
4. Permitir que se enfríe y llevar a un balón aforado de 50 mL, completar a volumen con agua destilada.

5. Comprobar el contenido de nitritos en la muestra con el test de nitritos; concentraciones superiores a 0,5 mg/L de los iones nitrito (NO_2^-) deben ser eliminadas porque causan interferencia en la determinación. Para eliminar los iones nitrito se deben añadir 5 gotas de una solución acuosa de ácido amidosulfúrico a 5 mL de la muestra (pH menor a 10) y agitar varias veces.
6. El valor del pH debe estar en el intervalo de 1-12, si el pH es menor que 1, amortiguar la muestra con acetato de sodio; si es mayor que 12, ajustar a un valor aproximado de 3-5 con ácido tartárico.
7. Encender el reflectómetro presionando la tecla ON/OFF, presionar la tecla TEST hasta que en la pantalla se muestre el número correspondiente del test de Nitratos (Nitritos), se debe comparar las tres primeras cifras del número de lote del test utilizado, con las cifras que se muestran en la pantalla, las cifras deben coincidir, de lo contrario se debe recalibrar el instrumento. Tener a disposición las tiras de ensayo en su recipiente de empaque.
8. Presionar la tecla START del reflectómetro, aparecerá en la pantalla el tiempo de reacción memorizado para el método que es de 60 segundos en nitratos y 15 segundos para nitritos. Pulsar de nuevo la tecla START e introducir de forma absolutamente simultanea la tira de ensayo con ambas zonas de reacción inmersas en la muestra preparada, durante un tiempo de 2 segundos (15-30 °C).
9. Retirar la tira de la muestra y dejar que se escurra cuidadosamente el exceso de líquido por el borde longitudinal de la tira sobre un pañuelo de papel absorbente.
10. Aproximadamente 5 segundos antes de transcurrir el tiempo de reacción, introducir la tira con las zonas de reacción en dirección a la pantalla hasta el tope en el adaptador de tiras.
11. Después de transcurrido el tiempo de reacción, leer en la pantalla el valor de medición en unidades de mg/L de NO_3^- (nitratos) o de NO_2^- (nitritos), escribir el resultado en el cuaderno de laboratorio o el formato utilizado para registro. El valor de resultado se memoriza de manera automática.
12. Si el valor de medición es superior al intervalo de medida del test en la pantalla aparece el valor HI, en este caso debe repetirse la medición con nuevas muestras diluidas, hasta que se obtenga un valor inferior a 90 mg/L. Si el valor es inferior al intervalo de medida aparece el valor LO, se recomienda tomar más muestra para una nueva dilución. El intervalo de medida del test es de 3-90 mg/L de nitratos y de 0,5-25 mg/L de nitritos.

Cálculos y registro de resultados

El resultado del análisis se considera que corresponde a la dilución realizada:

$$\begin{aligned} \text{Contenido de nitratos [mg/kg]} &= \text{Valor de medición [mg/L]} \times \text{factor de dilución} \\ \text{Contenido de nitratos [mg/kg]} &= \text{valor de medición} \times 5 \end{aligned}$$

Recomendaciones

Para la comprobación de las tiras de ensayo, el instrumento de medición y del procedimiento, se recomienda realizar una medición de la solución estándar de nitratos de 50 mg/L antes de cada serie de medición, registrar el resultado en los formatos de laboratorio. Por cada grupo de 10 muestras se recomienda procesar un duplicado de las muestras.

Para las repeticiones promediar los valores obtenidos y expresar el resultado con dos cifras significativas. La diferencia de los dos resultados no debe ser superior al 2 % del promedio. Si se introduce la tira en el adaptador después de pasado el tiempo de reacción, es posible que se obtenga un valor falso de medición al pulsar de nuevo la tecla START.

Referencias

MERCK. Application: Nitrate in Potatoes. Reflectometric determination after reduction to nitrite and reaction with Griess reagent. Darmstadt, Germany. 2012.

MERCK. Reflectoquant. Test Nitratos. Darmstadt, Germany. 2016.

MERCK. Reflectoquant. RQflex plus 10, Modo de empleo. Darmstadt, Germany. 2013.

NELSON Y COX. Lehninger: Principios de Bioquímica. Sexta edición. Editorial Omega. España, 2014. ISBN: 978 842 821 6036.



El color se considera un indicador representativo de la calidad de los productos. La CIE o Commission Internationale de l'Eclairage (Comisión Internacional de la Iluminación) es la institución responsable de las recomendaciones internacionales para la fotometría y colorimetría. Los sistemas CIE usan tres coordenadas para ubicar un color en un espacio de color. Estos espacios de color incluyen:

- CIE XYZ
- CIE L*a*b*
- CIE L*C*h*

El espacio CIE L*a*b* permite especificar estímulos de color en un espacio tridimensional (L*, a* y b*) para colores en superficies. El eje L* es el eje que representa la luminosidad que va desde valores de 0 (negro) a 100 (blanco). El eje a* representa la variación del color entre el rojo y verde. Y el eje b*, representa la variación del color entre amarillo y azul. En ambos ejes se aprecian valores positivos y negativos (ver figura 1).

El sistema CIE L*C*h° permite determinar el croma o saturación (C*) y el tono (h°) como un ángulo en coordenadas polares. Una vez conocidos los valores de a* y b* se puede determinar las coordenadas C* y h° de acuerdo con las siguientes ecuaciones matemáticas:

$$C_{ab^*} = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}$$

$$h_{ab^*} = \arctg b^*/a^*$$

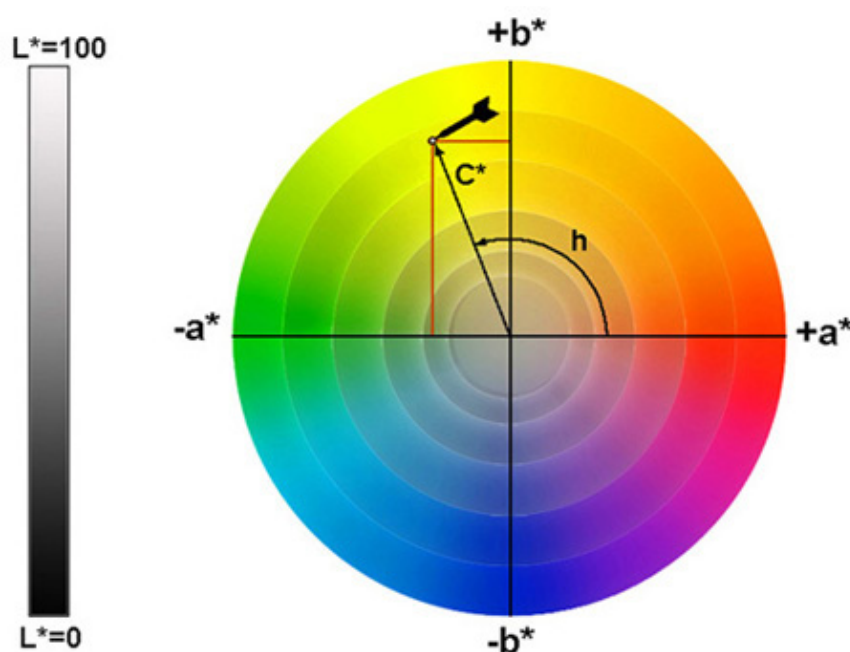


Figura 1. Plano cromático.

Materiales y equipos

1. Colorímetro con iluminante D65 (simula luz de día) y un observador de 10° como referencia.
2. Celda cilíndrica de vidrio para colorimetría.

Procedimiento

1. Cortar la papa en rodajas delgadas con un espesor de 2 mm
2. Ajustar calibración del equipo (blanco)
3. Colocar la muestra en la celda de vidrio y esta sobre la cámara del colorímetro
4. Realizar la lectura de la muestra

Registro de resultados

Los resultados que se obtienen del equipo son valores correspondientes a las coordenadas L^* , a^* y b^*

Si se desea obtener la diferencia de color entre dos objetos se puede determinar como la diferencia entre las coordenadas L^* , a^* , b^* , C^* y h° . Las expresiones de esta diferencia de color son ΔL^* , Δa^* , Δb^* , ΔC^* y Δh° (Δ proviene del símbolo “delta”, que significa “diferencia”). Dados ΔL^* , Δa^* , Δb^* la diferencia total o distancia en el diagrama CIELAB puede ser expresado como un valor único conocido como ΔE^* expresado matemáticamente así:

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$$

Recomendaciones

1. Se recomienda utilizar un colorímetro Espectrofotómetro CM-5

Referencias

- Arango, Z. T., Rodríguez, M. C., & Campuzano, O. I. M. (2010). Frutos de Uchuva (*Physalis peruviana* L.) ecotipo ‘Colombia’ mínimamente procesados, adicionados con microorganismos probióticos utilizando la ingeniería de matrices. *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín*, 63(1), 5395-5407.
- Trejo-Escobar, D., Cortés, M., Mejía-España, D. 2019. Influencia de proceso de fritura al vacío sobre la calidad de chips de papa nativa, variedad Botella Roja. *Información Tecnológica*, 30(5): 67-80.

FIRMEZA / TEXTURA

La firmeza mide la resistencia a daños físicos ocasionados por medios mecánicos durante la recolección, manipulación y transporte; depende del momento y método de recolección y de la temperatura de almacenamiento. Los ensayos de firmeza miden la fuerza que opone un material biológico al ser perforado o comprimido hasta cierta profundidad y deformación. En función de la calidad del producto, el conocimiento de características como la firmeza, juegan un papel indispensable para lograr una buena presentación y conservación, permitiendo definir el manejo más adecuado del producto durante los periodos de precosecha, cosecha y postcosecha.

La textura se asocia a un conjunto de propiedades que se relacionan con la estructura del alimento, la cual depende del material vegetal, las condiciones de procesamiento y de la cantidad de aceite absorbido, cuanto más alto es el contenido de grasa menos crujiente es el alimento, siendo la crocancia la característica de textura más relevante, por ello los productos tipo chips deben ser firmes y tener una fácil ruptura que emite un sonido crocante. En los productos procesados a partir de papa, características como color, textura y contenido de aceite, resultan de gran relevancia, siendo estos los parámetros de calidad más importantes.

Materiales, equipos y reactivos

- Texturómetro con accesorios
- Puntas, mordazas

Procedimiento

Tomar de 5 a 10 tubérculos para firmeza, 10 a 15 hojuelas y 5 a 10 bastones de papas fritas para textura.

Tanto para la determinación de la firmeza como de la textura, se realizan pruebas de compresión, con ayuda de una punta o punzón cilíndrico con base esférica o plana pequeña (0,5 a 0,7 mm de diámetro), con celda de carga de 250 N, desplazamiento vertical a velocidades entre los 20 a 25 mm min⁻¹, y distancias de penetración de 5 a 10 mm.

Los tubérculos de papa enteros y crudos se apoyan sobre sus dimensiones máximas para determinar firmeza. En cuanto a la textura, se utilizan hojuelas o bastones de papas fritas dispuestas sobre un aditamento que permita la fracturabilidad.

Cálculos y registro de resultados

Los datos se obtienen directamente del software del equipo utilizado para dicho fin, expresando los datos en medidas de fuerza, generalmente Newton (N) o Kilogramo fuerza (Kgf).

Recomendaciones

Realizar varias mediciones en diferentes puntos del tubérculo para mayor certeza de la medida de firmeza, con los diferentes datos obtenidos, calcular un promedio para la medida del tubérculo.

Realizar varias repeticiones de una misma variedad tanto en fresco como procesado.

Realizar un número considerable de frituras, ya que el aceite deteriorado influye en la textura del producto.

Nota

Para la descripción del protocolo se utilizó un analizador de textura LLOYD LS1, con software NEXYGENPlus, utilizando una sonda de 5mm de diámetro PBT/0032/00 para los ensayos de firmeza y el accesorio Crisp Fracture Jig 01/2658 para textura.

Referencias

- Buitrago, G., A. López, A. Coronado, F. Osorno. 2004. Determinación de las características físicas y propiedades mecánicas de papa cultivada en Colombia. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*. 8(1): 102-110.
- Córdoba-Solarte, L., Chaves-Morillo, D., Latorre-Vásquez, L., Valencia-Flórez, L., Trejo-Escobar, D., y Mejía-España, D. 2017. Efecto de algunos pretratamientos en la textura de papas tipo chips de la var. Suprema certificada. VII Congreso Ecuatoriano de la Papa, Libro de memorias, Tulcán, Ecuador. 89-90.
- Hasbún, J., Esquivel, P., Brenes, A., Alfaro, I. 2009. Propiedades físico-químicas y parámetros de calidad para uso industrial de cuatro variedades de papa. *Agronomía Costarricense*. 33(1): 77-89.
- Trejo-Escobar, D., Cortés, M., Mejía-España, D. 2019. Influencia de proceso de fritura al vacío sobre la calidad de chips de papa nativa, variedad Botella Roja. *Información Tecnológica*, 30(5): 67-80.



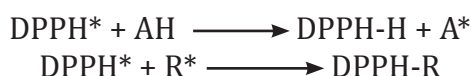
PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

La oxidación de los lípidos en los alimentos es responsable de la formación de malos sabores y compuestos químicos indeseables que puede ser perjudicial para la salud. Los antioxidantes son utilizados por la industria de alimentos para retrasar el proceso de oxidación. Muchos métodos diferentes se han utilizado para medir la resistencia de un lípido a la oxidación cuando está en presencia de antioxidantes potenciales. Estas pruebas se realizan generalmente ya sea en un lípido o en una emulsión. La auto oxidación es un proceso lento, donde el radical procede a través de una reacción en cadena que incluye varias etapas la inducción, la propagación y la terminación.

Durante el período de inducción, se forman radicales alquilo que se someten a reacción con la moléculas de oxígeno para formar hidroperóxidos y radicales peróxido durante la fase de propagación (Brand-Williams *et al.*, 1995). Los métodos para establecer la capacidad antioxidante total difieren en la vía de generación de radicales libres, la forma de medida, el punto final de inhibición de la reacción y la sensibilidad de reducción de las moléculas en la muestra. Entre los métodos más usados para medir capacidad antioxidante se encuentran el ABTS y DPPH basados en la captación de los radicales libres 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico ácido) y 2,2-difenil-1-picrilhidrazil, respectivamente (Cerón *et al.*, 2010).

METODOLOGÍA POR DPPH

El método de DPPH es un método indirecto y está basado en la capacidad de estabilizar los radicales libres 2,2-difenil-1-picril hidrazilo al reaccionar con sustancias donadoras de H+. Mediante el método DPPH solo se puede medir la actividad de compuestos de naturaleza lipofílica. Este método presenta una excelente estabilidad a ciertas condiciones por presentar un radical libre que puede obtenerse directamente sin una preparación previa (Cerón *et al.*, 2010) la reducción de DPPH* como se indica a continuación es seguido por el monitoreo de la disminución de su absorbancia a una determinada longitud de onda durante la reacción. En su forma más radical, DPPH* absorbe a 515 nm, pero después de la reducción por un antioxidante (AH) o una especie de radical (R*), desaparece la absorción (Brand-Williams *et al.*, 1995).



Material, Equipos y Reactivos

Material:

Balones aforados de 50 mL, 100 mL
Tubos falcon de 50 mL
Papel aluminio
Envases ámbar

Celdas de vidrio o plásticas para espectrofotometría

Instrumental de laboratorio: pipetas, agitadores, soportes, gradillas, tubos de ensayo, beakers, frasco lavador, toallas de papel.

Equipos:

Espectrofotómetro Thermo Scientific Genesys 10S UV-Vis

Balanza analítica

Vortex

Centrífuga

Baño ultrasónico

Reactivos:

Metanol

DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Trolox (6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid 97%)

Hexano

Procedimiento

Preparación de soluciones

Solución madre de DPPH [0,25mM]: Pesar 9,9 mg de DPPH y llevar a 100 mL con metanol en balón aforado. Agitar rigurosamente en baño ultrasónico. Guardar en envase ámbar y en refrigeración (4°C). La solución madre es de color violeta intenso y se puede conservar máximo 1 mes.

Solución de trabajo DPPH [0,05 mM]: A 10 mL de la solución madre de DPPH se le adiciona aproximadamente 40 mL de metanol, agitar rigurosamente. Leer la absorbancia de solución de trabajo de DPPH (0,05 Mm) en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 517 nm la cual debe estar en $0,510 \pm 0,02$. **Nota:** se prepara diariamente

Solución madre de antioxidante Trolox [0,8 mg/ mL]: Pesar 20 mg de Trolox y llevar a 25 mL con metanol en balón aforado.

Curva de calibración

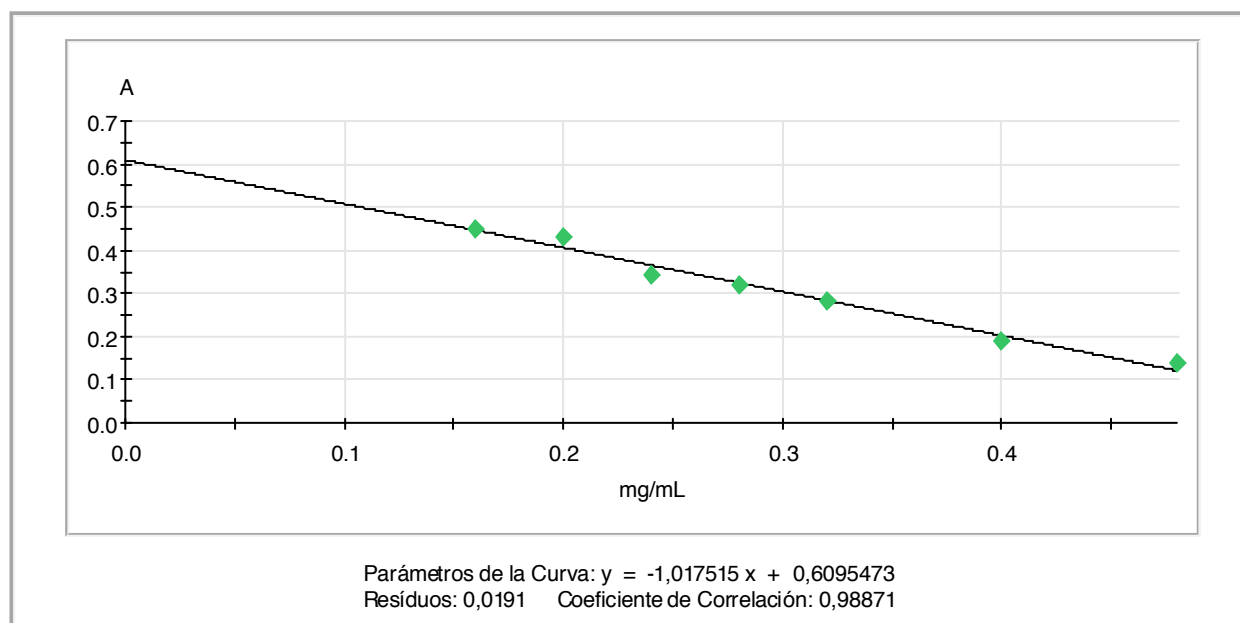
Preparar soluciones de trolox a concentraciones de 0,16 a 0,46 mg/ mL en tubos eppendorf a partir de la solución madre de trolox y completando con metanol. Agitar cada solución en vortex por 1 minuto.

En tubos de ensayo ámbar o en tubos normales recubiertos por aluminio para evitar el paso de la luz, colocar 30 μ L de las soluciones diluidas de trolox previamente preparadas y 2970 μ L de la solución de trabajo de DPPH.

Dejar reaccionar a temperatura ambiente por 30 minutos.

Transferir a una celda de vidrio y leer en el espectrofotómetro a 517 nm

Realizar la curva de calibrados y obtener la ecuación para poder realizar los cálculos posteriormente



Preparación de la muestra

1. Con ayuda de un procesador de alimentos o un mortero procesar la muestra hasta obtener partículas muy pequeñas.
2. Pesar 2.5 gramos de muestra, en tubo falcon de 50 mL.
3. Adicionar 5 mL de hexano y 5 mL de metanol en el tubo con la muestra, tapar de manera hermética, los tubos deben estar protegidos con papel aluminio.
4. Agitar la muestra en vortex a 2000 rpm durante 3 minutos.
5. Centrifugar la muestra a 3500 rpm durante 10 minutos a 25 °C.
6. Después de centrifugar tomar el sobrenadante de hexano y retirarlo con una pipeta, el extracto metanólico se recibe en un tubo de ensayo.
7. En tubo de ensayo con tapa, pipetear 30 μ L del extracto metanólico y adicionar 2970 μ L de solución de trabajo de DPPH.
8. Agitar y Dejar reaccionar a temperatura ambiente por 30 minutos
9. Vaciar el contenido del tubo en una celda de vidrio para espectrofotometría.
10. Leer las muestras en el espectrofotómetro a 517 nm.

Cálculos y Resultados

En la curva de calibración la concentración de DPPH en el medio de reacción se calcula a partir de una regresión lineal y se obtiene una ecuación:

$$Y = m X + b$$

Donde:

Y = absorbancia

X = concentración de trolox en celda (mg/ mL).

Para calcular la capacidad antioxidante en la muestra se debe despejar X de la ecuación y se expresa como mg/ mL equivalentes a trolox.

El resultado obtenido es la concentración de antioxidante en la celda (3000 µL), se debe realizar los cálculos respectivos para expresar el resultado por gramo de muestra siguiendo la siguiente formula:

$$\text{resultado} \left[\frac{\text{mg equivalentes a trolox}}{\text{gr muestra}} \right] = \frac{x * V * VM}{VE * W}$$

Donde:

x= concentración equivalente a trolox en celda (mg/ mL). (A partir del cálculo de la regresión lineal de la muestra con respecto a la curva de calibración)

V= Volumen total de la Solución en la celda de espectrofotometría mL)

VM= Volumen total de extracto metanólico

VE= Volumen de extracto metanólico colocado en la celda de espectrofotometría (mL)

W= peso de la muestra (gr)

Recomendaciones

1. Se recomienda utilizar un espectrofotómetro Thermo Scientific Genesys 10S UV-Vis
2. Todo el material que esté en contacto con el reactivo DPPH debe ser de color ámbar o recubiertos de papel aluminio para evitar que la luz degrade el reactivo y afecte los resultados.
3. Si la absorbancia de las muestras no se encuentra dentro de los parámetros de la curva de calibración se debe realizar diluciones con metanol o caso contrario agregar más muestra, si realizó alguna dilución recuerde realizar los cálculos respectivos.

Referencias

- Brand-Williams, W.; Cuvelier, M. & Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food Science and Technology, 28 (1): 25-30.
- Berger J, Rana R.J, Javeed H. Radical Quenching of 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl: a Spectrometric Determination of Antioxidant Behavior. Lab Documentation.
- Cerón I, Higuera J.C, Cardona C. 2010. Capacidad antioxidante y contenido fenólico total de tres frutas cultivadas en la región andina. Vector, 5:17 – 26.
- Trejo-Escobar, D.M.; Cortés, M. y Mejía-España, D.F. 2019. Influencia de Proceso de Fritura al Vacío Sobre la Calidad de Chips de Papa Nativa, Variedad Botella Roja. Información Tecnológica Vol. 30(5), 67-80.

METODOLOGIA POR ABTS

El radical ABTS^{•+} se genera a partir de su precursor el ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolín)-6-sulfónico (ABTS), (Ronald L. Prior, 2005). El radical catiónico obtenido es un compuesto de color verde-azulado, estable y con un espectro de absorción en el UV-visible.

El ABTS es un radical artificial que no mimetiza bien la situación in vivo, termodinámicamente puede ser reducido por compuestos que tengan un potencial redox menor que el del ABTS (0.68V), pudiendo reaccionar con el radical, muchos compuestos fenólicos con un potencial más bajo. El punto final de la reacción lo marca la sustancia antioxidante empleada, fijando tiempos cortos o muy elevados que pueden interferir en los resultados finales, lo cual, es un inconveniente. La ventaja de este ensayo es que puede realizarse tanto en muestras hidrosolubles como liposolubles, eligiendo el disolvente apropiado en cada caso.

Materiales, Equipos y Reactivos

Materiales:

Balones aforados de 10 mL, 50 mL, 100 mL

Tubos falcon de 50 mL

Papel aluminio

Envases ámbar

Celdas de vidrio para espectrofotometría

Instrumental de laboratorio: pipetas, agitadores, soportes, gradillas, tubos de ensayo, beakers, frasco lavador, toallas de papel.

Equipos:

Espectrofotómetro

Balanza analítica

Vortex

Centrífuga

Baño ultrasónico

Reactivos:

Metanol

2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolín)-6-sulfónico (ABTS)

Trolox (6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid 97%)

Hexano

Etanol

Persulfato de potasio

Procedimiento

Preparación de soluciones

Solución madre de ABTS [7 mM]: Pesar 38,8 mg de ABTS y llevar a 10 mL en balón aforado con agua tipo HPLC. A esta solución adicionar 6,6 mg de persulfato de potasio. Agitar rigurosamente en baño ultrasónico. Guardar en envase ámbar y a temperatura ambiente en lugar fresco y seco y dejar reaccionar durante 16 horas.

Nota: La solución madre es de color verde oscuro, lo cual indica que el radical ABTS se ha oxidado, esta solución se puede conservar máximo 10 días.

Solución de trabajo ABTS [0,05 mM]: A 1 mL de la solución madre de ABTS se le adiciona aproximadamente 10 mL de etanol, agitar rigurosamente y leer la absorbancia de la solución de trabajo en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 734 nm la cual debe estar en $0,7 \pm 0,02$ nm. Las cifras decimales deben separarse con comas cuando se escribe en español.

Nota: se prepara diariamente

Solución madre de antioxidante Trolox [0,8 mg/mL]: Pesar 20 mg de Trolox y llevar a 25 mL con metanol en balón aforado.

Curva de calibración

Preparar soluciones de trolox a concentraciones de 0,16 a 0,46 mg/mL en tubos eppendorf a partir de la solución madre de trolox, las diluciones se deben realizar con metanol. Agitar cada solución en vortex por 1 minuto.

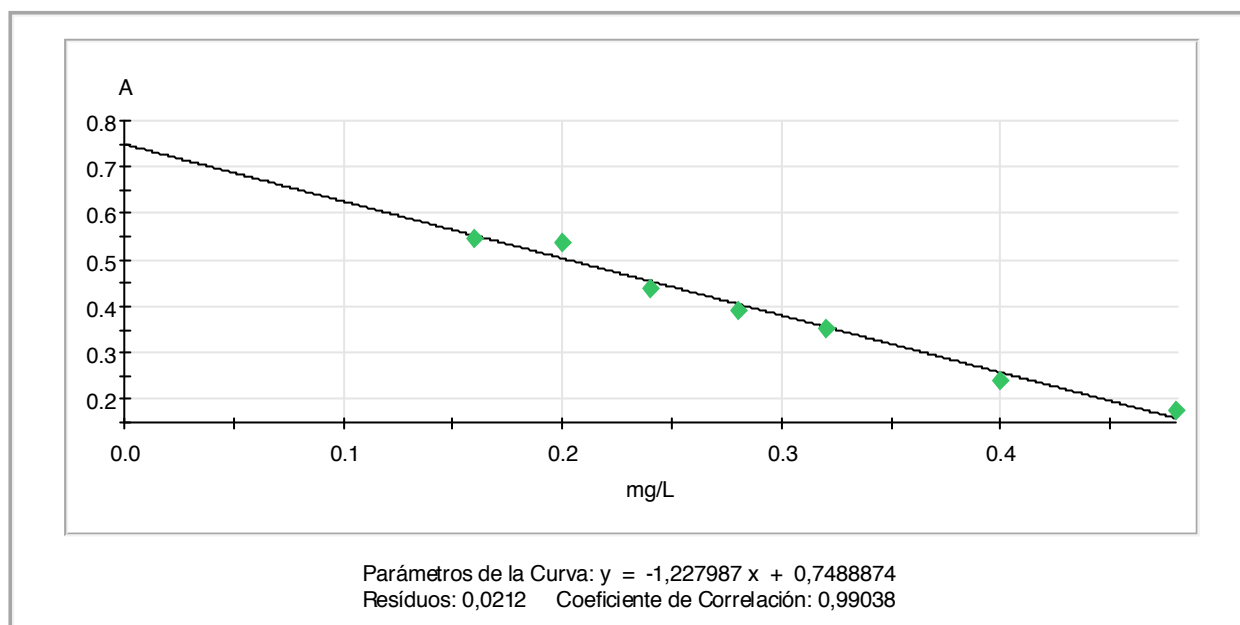
En tubos de ensayo ámbar o en tubos normales recubiertos por aluminio para evitar el paso de la luz, colocar 30 μ L de las soluciones diluidas de trolox previamente preparadas y 3000 μ L de la solución de trabajo de ABTS.

Dejar reaccionar a temperatura ambiente y en oscuridad por 7 minutos.

Transferir a una celda de vidrio y leer en el espectrofotómetro a 734 nm

Realizar la curva de calibrados y obtener la ecuación para poder realizar los cálculos posteriormente.





Preparación de la muestra

1. Con ayuda de un procesador de alimentos o un mortero procesar la muestra hasta obtener partículas muy pequeñas.
2. Pesar 2,5 gramos de muestra, en tubo falcon de 50 mL.
3. Adicionar 5 mL de hexano y 5 mL de metanol en el tubo con la muestra, tapar de manera hermética, los tubos deben estar protegidos con papel aluminio.
4. Agitar la muestra en vortex a 2000 rpm durante 3 minutos.
5. Centrifugar la muestra a 3500 rpm durante 10 minutos a 25 °C.
6. Después de centrifugar tomar el sobrenadante de hexano y retirarlo con una pipeta, el extracto metanólico se recibe en un tubo de ensayo.
7. En tubo de ensayo con tapa, pipetear 30 μ L del extracto metanólico y adicionar 3000 μ L de solución de trabajo de ABTS.
8. Agitar y Dejar reaccionar a temperatura ambiente y en oscuridad por 7 minutos
9. Vaciar el contenido del tubo en una celda de vidrio para espectrofotometría.
10. Leer las muestras en el espectrofotómetro a 734 nm.

Cálculos y Resultados

En la curva de calibración la concentración de ABTS en el medio de reacción se calcula a partir de una regresión lineal y se obtiene una ecuación:

$$Y = m X + b$$

Dónde:

Y = absorbancia

X = concentración de trolox en celda (mg/ mL).

Para calcular la capacidad antioxidante en la muestra se debe despejar X de la ecuación y se expresa como mg/ mL equivalentes a trolox.

El resultado obtenido es la concentración de antioxidante en la celda (3000 μ L), se debe realizar los cálculos respectivos para expresar el resultado por gramo de muestra siguiendo la siguiente formula:

$$\text{resultado} \left[\frac{\text{mg equivalentes a trolox}}{\text{gr muestra}} \right] = \frac{x * V * VM}{VE * W}$$

Donde:

X= concentración equivalente a trolox en celda (mg/ mL). (A partir del cálculo de la regresión lineal de la muestra con respecto a la curva de calibración)

V= Volumen total de la Solución en la celda de espectrofotometría (mL)

VM= Volumen total de extracto metanólico

VE= Volumen de extracto metanólico colocado en la celda de espectrofotometría (mL)

W= peso de la muestra (g)

Recomendaciones

1. Se recomienda utilizar un espectrofotómetro Thermo Scientific Genesys 10S UV-Vis
2. Todo el material que esté en contacto con el reactivo ABTS debe ser de color ámbar o recubiertos de papel aluminio para evitar que la luz degrade el reactivo y afecte los resultados.
3. Si la absorbancia de las muestras no se encuentra dentro de los parámetros de la curva de calibración se debe realizar diluciones con metanol o caso contrario agregar más muestra, si realizó alguna dilución recuerde realizar los cálculos respectivos.

Referencias

- Roberta Re, Nicoletta Pellegrini, Anna Proteggente, AnanthPannala, Min Yang, and Catherine Rice-Evans. 1999. Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. Free Radical Biology & Medicine. 26(9/10):1231–1237
- Trejo-Escobar, D.M.; Cortés, M. y Mejía-España, D.F. 2019. Influencia de Proceso de Fritura al Vacío Sobre la Calidad de Chips de Papa Nativa, Variedad Botella Roja. Información Tecnológica Vol. 30(5), 67-80.



MEDICIÓN DEL CONTENIDO DE FENOLES TOTALES

Los compuestos fenólicos tienen una gran capacidad antioxidante, relacionada con la actividad biológica y son los responsables de proteger al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc. Estos compuestos químicos son suministrados al organismo mediante el consumo de frutas, verduras o alimentos en forma de suplemento, ya que el cuerpo humano no produce este tipo de compuestos (Ochoa, 2004). Los compuestos con actividad antioxidante son de mucha importancia para el cuerpo humano por la capacidad que tienen de proteger a las macromoléculas biológicas contra el daño oxidativo. Entre los más conocidos figuran los tocoferoles, el ácido ascórbico, los flavonoides, antocianinas, carotenoides y ácidos fenólicos (Larson, 1997).

El principio del mecanismo de reacción de estos compuestos se basa en la captura de radicales libres generados en el organismo. Estos radicales actúan sobre ácidos grasos poliinsaturados, colesterol, ADN y lípidos, para la sustracción de un electrón por parte del radical para alcanzar su estabilidad electroquímica. Los antioxidantes actúan como fuentes de hidrógeno y se oxidan en lugar de cualquiera de los componentes anteriormente mencionados, protegiendo de esta manera las células contra el daño que causan los radicales libres.

Materiales, Equipos y Reactivos.

Materiales:

Balones aforados de 5 mL, 10 mL, 50 mL, 100 mL

Tubos falcon de 50 mL

Papel aluminio

Envases ámbar

Celdas de vidrio para espectrofotometría

Embudo

Papel de filtro Whatman #1

Instrumental de laboratorio: pipetas, agitadores, soportes, gradillas, tubos de ensayo, beakers, frasco lavador, toallas de papel.

Equipos:

Espectrofotómetro

Balanza analítica

Vortex

Centrífuga

Rotaevaporador

Reactivos:

Ácido gálico

Agua destilada o HPLC

Carbonato de Sodio (Na_2CO_3)

Reactivo de Folin – Ciocalteau

Metanol

Hexano

Procedimiento

Preparación de soluciones

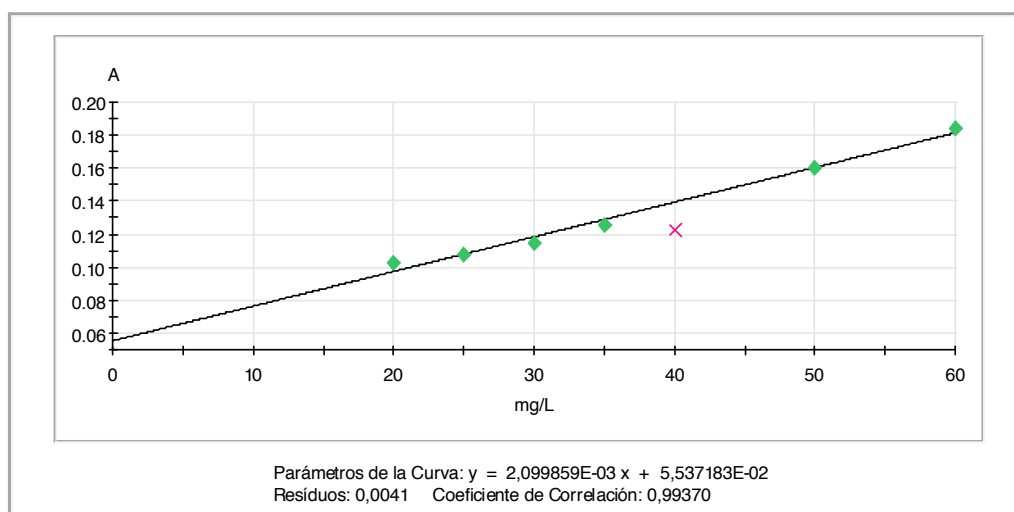
Solución madre de ácido gálico [200 mg/L]: Pesar 10 mg de ácido gálico y llevar a 50 mL en balón aforado con agua tipo HPLC.

Solución de carbonato de sodio [20% P/V]: pesar 20 gr de carbonato de sodio y llevar a 100 mL en balón aforado con agua HPLC, agitar rigurosamente.

Solución Reactivo de Folin – Ciocalteau: en envase ámbar se diluye con agua destilada a una proporción 1:1 V/V. **Nota:** preparar diariamente.

Curva de calibración

1. A partir de la solución madre de ácido gálico preparar diluciones entre 0 y 10 mg/L en tubos de ensayo, las diluciones se deben realizar con agua. Agitar cada solución en vortex por 1 minuto.
2. En tubos de ensayo ámbar o en tubos normales recubiertos por aluminio para evitar el paso de la luz, colocar 720 μL de agua, 30 μL de soluciones diluidas de ácido gálico previamente preparadas, 1875 μL de carbonato de sodio. Agitar en vortex y dejar reposar 5 min; finalmente adicionar 375 μL de la solución de reactivo de Folin y dejar reposar en oscuridad a temperatura ambiente por 2 horas.
3. Para preparar el blanco, se realiza el mismo proceso del paso anterior reemplazando los 30 μL de la solución de ácido gálico por agua.
4. Programar el espectrofotómetro a 760 nm
5. Transferir la solución del blanco a una celda de vidrio y realizar un autocero en el espectrofotómetro
6. Transferir las soluciones de las muestras de ácido gálico y leer en el espectrofotómetro
7. Realizar la curva de calibración y obtener la ecuación para poder realizar los cálculos posteriormente.



Preparación de la muestra

1. Con ayuda de un procesador de alimentos o un mortero procesar la muestra hasta obtener partículas muy pequeñas.
2. Pesar 2.5 gramos de muestra, en tubo falcon de 50 mL.
3. Adicionar 5 mL de hexano, 3 mL de metanol y 2 mL de agua en el tubo con la muestra, tapar de manera hermética, los tubos deben estar protegidos con papel aluminio.
4. Agitar la muestra en vortex a 2000 rpm durante 5 minutos.
5. Centrifugar la muestra a 3500 rpm durante 10 minutos a 25 °C.
6. Después de centrifugar tomar el sobrenadante de hexano y retirarlo con una pipeta, el extracto metanólico se recibe en un tubo de ensayo.
7. El extracto metanólico se rotaevapora a 100 rpm, 45°C, durante 5 minutos (hasta retirar el metanol de la muestra)
8. Recibir el extracto en un balón volumétrico de 10 mL y aforar con agua.
9. En tubos de ensayo ámbar o en tubos normales recubiertos por aluminio para evitar el paso de la luz, colocar 720 µL de agua, 30 µL de la muestra, 1875 µL de carbonato de sodio. Agitar en vortex y dejar reposar 5 min y finalmente adicionar 375 µL de la solución de reactivo de folin.
10. Para preparar el blanco, se realiza el mismo proceso del paso anterior reemplazando los 30 µL de la muestra por agua.
11. Dejar reposar en oscuridad a temperatura ambiente por 2 horas.
Nota: las muestras deben tornarse de un color azul claro y el blanco debe quedar transparente.
12. Programar el espectrofotómetro a 760 nm
13. Transferir la solución del blanco a una celda de vidrio y realizar un autocero en el espectrofotómetro
14. Transferir las soluciones de las muestras a la celda de vidrio y leer en el espectrofotómetro

Cálculos y Resultados

En la curva de calibración la concentración de ácido gálico en el medio de reacción se calcula a partir de una regresión lineal y se obtiene una ecuación:

$$Y = m X + b$$

Donde:

Y = absorbancia

X = concentración de ácido gálico en celda (mg/L).

Para calcular los fenoles totales en la muestra se debe despejar X de la ecuación y se expresa como mg/L equivalentes a ácido gálico.

El resultado obtenido es la concentración de fenoles totales en la celda (3000 µL), se debe realizar los cálculos respectivos para expresar el resultado por gramo de muestra siguiendo la siguiente ecuación: SERÍA CONVENIENTE NUMERAR TODAS LAS ECUACIONES

$$\text{resultado} \left[\frac{\text{mg equivalentes a ácido gálico}}{\text{gr muestra}} \right] = \frac{x * V * VM}{VE * W}$$

Donde: EN ALGUNAS SECCIONES APARECE ESTA PALABRA EN CURSIVA Y EN OTRAS DERECHA.

X= concentración equivalente a ácido gálico en celda (mg/L) (A partir del cálculo de la regresión lineal de la muestra con respecto a la curva de calibración)

V= Volumen total de la Solución en la celda de espectrofotometría (L)

VM= Volumen total de extracto (mL)

VE= Volumen de extracto colocado en la celda de espectrofotometría (mL)

W= peso de la muestra (gr)

Recomendaciones

1. Se recomienda utilizar un espectrofotómetro Thermo Scientific Genesys 10S UV-Vis
2. Todo el material que esté en contacto con el reactivo de Folin debe ser de color ámbar o recubiertos de papel aluminio para evitar que la luz degrade el reactivo y afecte los resultados.
3. Si la absorbancia de las muestras no se encuentra dentro de los parámetros de la curva de calibración se debe realizar diluciones con agua o caso contrario agregar más muestra, si realizó alguna dilución recuerde realizar los cálculos respectivos.

Referencias

Larson, R. 1997. Naturally occurring antioxidants. CRC Press LLC, pág. 116

Ochoa C, Ayala A. Los flavonoides: apuntes generales y su aplicación en la industria de alimentos. Ingeniería y Competitividad: Revista de Divulgación del Desarrollo Científico y Tecnológico. 2004; 6 (2): 93 -104

Restrepo, A., Cortés, M., Rojano, B. 2010. Potenciación de la Capacidad Antioxidante de Fresa (*Fragaria ananassa* Duch.) por Incorporación de Vitamina E Utilizando la Técnica de Impregnación a Vacío. VITAE. 17(2): 135 – 140

Yang, J., Zhou, F., Xiong, L., Mao, S., Hu, Y., & Lu, B. (2015). Comparison of phenolic compounds, tocopherols, phytosterols and antioxidant potential in Zhejiang pecan [*Carya cathayensis*] at different stir-frying steps. LWT - Food Science and Technology, 62(1), 541–548. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.09.049>

MEDICIÓN DEL CONTENIDO DE GLICOALCALOIDES

Los glicoalcaloides son compuestos biológicamente activos, que ofrecen cierta protección importantes en la defensa natural de las plantas contra insectos y hongos; sin embargo, estos llegan a ser tóxicos para la salud humana, generando perturbaciones gastrointestinales por daños en membranas y trastornos neurológicos por la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa (Friedman, 2006; Tömösközi-Farkas et al., 2006; Cheng-Yu et al., 2018). Las papas contienen principalmente los glicoalcaloides α -solanina y α -chaconina, aunque también pueden estar presentes niveles más pequeños de los productos de hidrólisis, las formas β - y γ -aglicona. (Singh y Kaur, 2016). Algunas especies de papa han sido reportadas con niveles de glicoalcaloides totales (GT) entre 123 a 7348 mg kg⁻¹ papa fresca (Tömösközi-Farkas et al., 2006), donde α -solanina y α -chaconina representan más del 95% de los GT (Friedman, 2006).

Materiales, equipos y reactivos

Materiales:

Balones aforados de 50 mL, 100 mL, 250 mL.

Tubos falcon de 50 mL

Papel Whatman No. 1

Instrumental de laboratorio: pipetas, agitadores, soportes, gradillas, tubos de ensayo, beakers, frasco lavador, toallas de papel.

Equipos:

Plancha de agitación

Balanza analítica

pH-metro

Vortex

Centrífuga

Equipo para filtración al vacío con membrana. – Embudo de 300 mL Diam. 47 mm –Erlenmeyer para vacío con tapón 1 L – Pinza – Base sinterizada completa.

Equipo para Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) Breeze 2 Waters, operado con el software Empower 2.0 (Waters, USA), bomba binaria 1525, detector PDA 2998.

Columna Thermo Scientific - Hypersil GOLD C18, 5 μ m x 4.6 mm x 250 mm

Reactivos:

Metanol grado HPLC

Cloroformo grado HPLC

Buffer fosfato K₂HPO₄

Buffer fosfato KH₂PO₄

Solución de extracción: Metanol: Cloroformo (2:1)

Fase móvil: Preparar las soluciones buffer por separado en agua HPLC según las indicaciones de la siguiente tabla.

Cantidad a preparar	Potassium monohydrogen phosphate K_2HPO_4 (gr)	Potassium dihydrogen phosphate KH_2PO_4 (gr)
250 mL	4,35	3,4
100 mL	1,74	1,36
50 mL	0,87	0,68

Mezclar las soluciones y llevar a pH 7,6. Luego Mezclar Acetonitrilo:agua:buffer (60:30:10) (V:V:V). Filtrar en membrana en PDVF 0,45 μ m x 47mm y desgasificar.

Curvas patrón: Se construye las curvas de calibración a concentraciones entre 0 – 50 ppm con los estándares α -solanina (S3757; CAS 20562-01-1; $C_{45}H_{73}NO_{15}$; SIGMA-ALDRICH) y α -chaconina (021553S; CAS 20562-03-2; $C_{45}H_{73}NO_{14}$; INDOFINE Chemical Company, Inc.).

Condiciones de operación del equipo de HPLC:

Flujo de 1,5 mL/min de fase móvil (acetonitrilo:agua:buffer fosfato pH 7.6)

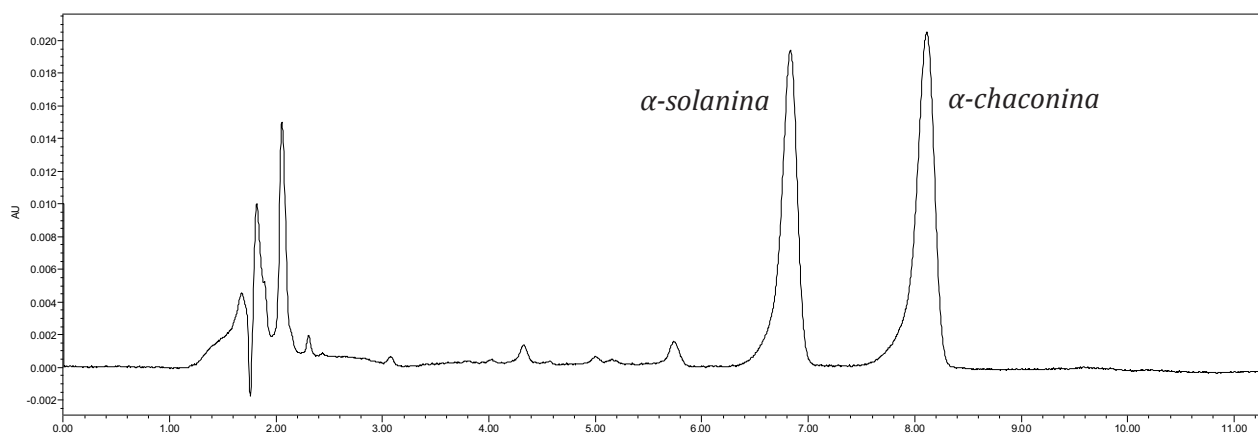
Temperatura de la columna 40°C

Longitud de onda: 205 nm.

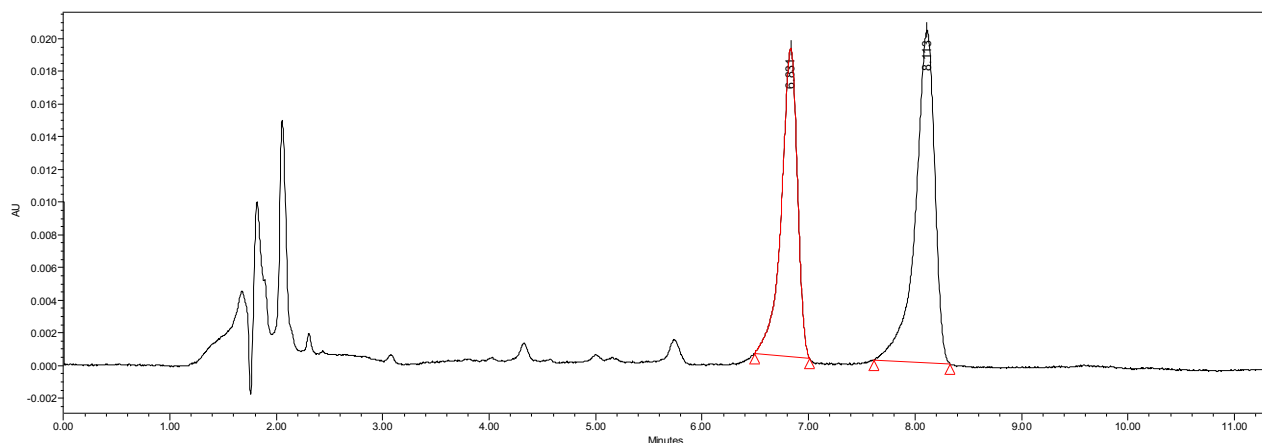
Estabilizar el equipo con fase móvil por 40 minutos antes de leer la primera muestra o estándar.

Se inyecta en el cromatografía 20 μ L de muestra o estándar

Los tiempos de retención para los glicoalcaloides se encuentran aproximadamente en 6,8 min para α -solanina y 8,1 min para α -chaconina.



Cromatograma de estándares de α -solanina y α -chaconina a 50 ppm.



Nombre	Tiempo de Retención	Área
<i>α-solanina</i>	6.831	198852
<i>α-chaconina</i>	8.113	256113

Cromatograma de estándares de α -solanina y α -chaconina a 50 ppm y cálculo del área bajo la curva del analito realizado con el software Empower 2.0 (Waters, USA)

Con el área de cada uno de los puntos establecidos para la curva de calibración se realiza las gráficas las cuales deben presentar una R^2 superior al 99%. De esta forma se obtiene las ecuaciones de la forma $Y = m X + b$ donde X representa la concentración de glicoalcaloides.

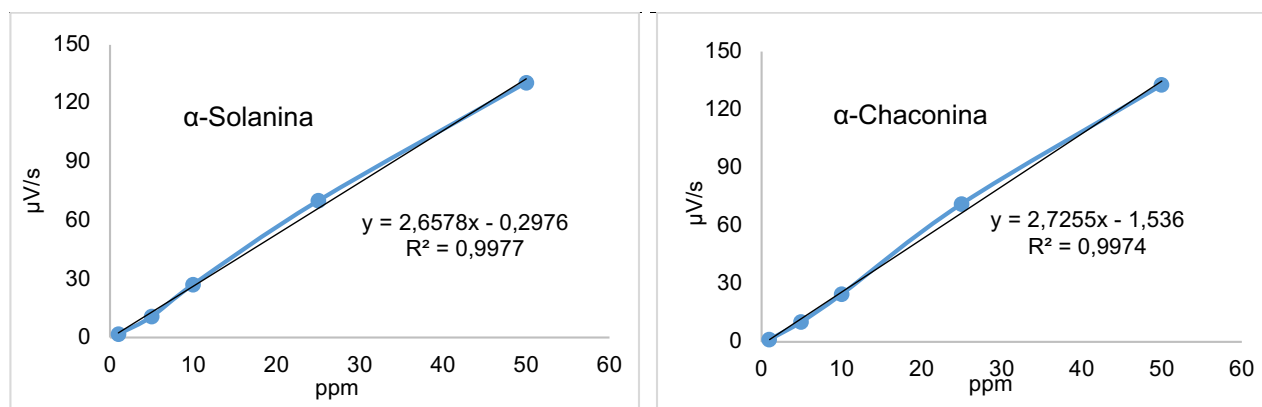


Figura 2. Curva de calibración de α -solanina y α -chaconina (área en $\mu V/s$ en miles).

Procedimiento

1. Pesar 3 g muestra
2. Adicionar 60 mL de solución Metanol: Cloroformo (2:1)
3. Agitar en plancha a velocidad baja por 10 min
4. Adicionar 60 mL de solución Metanol: Cloroformo (2:1)
5. Agitar en plancha a velocidad alta por 60 min
6. Rotaevaporar a 60 °C hasta concentrar aproximadamente a 20 mL
7. Adicionar 9 mL de HCl 0,2 N
8. Agitar en plancha por 20 min
9. Filtrar en papel whatman No 1. (con ayuda del equipo de filtración)
10. Al filtrado se le adiciona NH_4OH (25%) hasta pH 11 (aprox. 5 mL)
11. Calentar a 70 °C por 20 min.
12. Refrigerar (4°C) por 60 min.
13. Centrifugar a 7500 rpm durante 20 min y descartar el sobrenadante
14. Sobre el pellet adicionar 3 mL de fase móvil (Acetonitrilo:agua:buffer) (60:30:10)
15. Vortizar y pasar por filtro de Nylon de 13 mm poro de 0,45 μm .

Determinación por Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

Se realiza a las mismas condiciones a las que se realizaron las curvas patrón

Resultados

Los resultados se obtienen en áreas bajo la curva en $\mu\text{V/s}$ y se realiza los cálculos según las ecuaciones obtenidas de las curvas patrón realizadas con los estándares. Los contenidos de α -solanina y α -chaconina se expresan en ppm.

Referencias

- Karl-Erik, H., A Simplified Procedure for Quantification of Potato Glycoalkaloids in Tuber Extracts by H.P.L.C. Comparison with ELISA and a Colorimetric Method, doi: 10.1002/js-fa.2740370810J, Journal of the Science of Food and Agriculture, 37(8), 776–782 (1986)
- AOAC, Official Methods of Analysis, 997.13. Glycoalkaloids (α -Solanine and α -Chaconine) in Potato Tubers. AOAC INTERNATIONAL (2000)



MEDICIÓN DEL CONTENIDO DE GRASA

Las grasas o lípidos desempeñan muchas funciones en los tejidos y son una fuente energética importante en los alimentos (cada gramo genera 9 kcal), además se encuentran en los alimentos contribuyendo a la textura y en general a las propiedades sensoriales del producto. Las principales fuentes son los tejidos animales y las semillas oleaginosas, ya que las frutas y hortalizas presentan por lo general muy bajas concentraciones, a excepción del aguacate, las aceitunas y algunos tipos de nueces, en los alimentos procesados el contenido puede variar según la preparación.

Materiales, equipos y reactivos

Sistema extractor Soxhlet: incluye balones de 100 mL o 50 mL con boca esmerilada, cartucho para muestras, condensador refrigerante, columna de extracción.

Balanza analítica

Papel filtro, algodón desengrasado

Baño termostático

Equipo rotaevaporador

Estufa de aire a 100°C para secado

Procesador de alimentos para macerar u homogenizar

Éter etílico, éter de petróleo o bencina de petróleo comercial como disolvente (P.E. 60 °C aprox.)

Jabón e implementos de limpieza de material

Procedimiento

1. En muestras con mucha humedad se recomienda reducir el tamaño de partícula y homogenizar la muestra con un procesador de alimentos y secar para retirar la humedad según procedimiento de pérdida por secado en estufa.
2. Pesar en balanza analítica por duplicado de 2 a 5 gramos de la muestra preparada en el dedal o cartucho de extracción previamente tarado y taparlo con algodón desengrasado, registrar el peso (m).
3. Secar un balón de extracción limpio en estufa, dejar enfriar, pesar en balanza analítica y registrar el peso (m_1).
4. Adicionar el solvente al balón, ubicar el cartucho en la columna, armar el equipo Soxhlet y ubicar en plancha de calentamiento o baño termostático.
5. Extraer la muestra con el solvente entre 6 a 8 horas a una velocidad de condensación de 3-6 gotas /segundo.
6. Terminada la extracción recuperar el solvente por evaporación en rotaevaporador o en el mismo sistema Soxhlet.
7. Secar el balón con la grasa extraída en estufa, enfriar y llevar hasta peso constante, registrar el peso (m_2).

Cálculos y registro de resultados

$$\% \text{ Grasa cruda} = \frac{(m_2 - m_1)}{m} \times 100$$

Donde:

m = peso de la muestra

m₁ = peso balón limpio y seco

m₂ = peso balón con grasa

Recomendaciones

Los resultados se pueden informar como porcentaje de materia grasa en base seca o húmeda; para las repeticiones promediar los valores obtenidos y expresar el resultado con dos cifras decimales. La diferencia de los dos resultados no debe ser superior al 2% del promedio.

Utilizar los implementos de seguridad del laboratorio durante los ensayos: Bata, gafas, guantes y máscara de protección.

Tener precaución con los solventes frente a chispas y fuentes de calor pues son inflamables, revisar las fichas de seguridad. Manejar el solvente en campana de extracción o utilizar máscara de protección.

Referencias

AOAC International. Official methods of analysis of AOAC International. 19th edition. 2012.

GAVIRIA, L.; CALDERÓN, C. Manual de métodos analíticos para el control de calidad en la industria alimentaria. GTC 1 (6.1), Colombia.

BADUI, S. Química de los alimentos. Tercera edición. Addison Wesley Longman de México, México, 1993. ISBN 968-444-+152-5

NUÑEZ, C. Extracciones con equipos soxhlet. En: www.cnunez.com.ar



Universidad de **Nariño**



DNP Departamento
Nacional
de Planeación

